

(19) KOREAN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE

KOREAN PATENT ABSTRACTS

(11)Publication number: 1020020084311 A
(43)Date of publication of application: 07.11.2002

(21)Application number: 1020010022385
(22)Date of filing: 25.04.2001

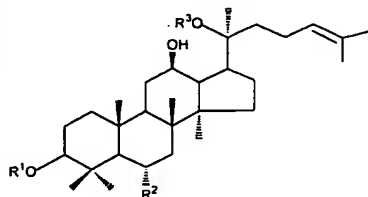
(71)Applicant: DIGITALBIOTECH CO., LTD.
(72)Inventor: JUNG, MIN HWAN
JUNG, SEOK JAE
MOOK, IN HUI

(51)Int. Cl. A61K 31/70

(54) COMPOSITION CONTAINING GINSENOSE HYDROLYSATE FOR PREVENTION AND TREATMENT OF DEGENERATIVE BRAIN DISEASE

(57) Abstract:

PURPOSE: A pharmaceutical composition containing a ginsenoside hydrolysate which exhibits strong antioxidant action while increasing synaptic density of cranial nerve cells is provided which can be used in prevention and treatment of a degenerative brain disease such as dementia, Parkinson's disease, cerebral apoplexy, Huntington's disease, etc..



CONSTITUTION: The preventing and therapeutic composition for a degenerative brain disease contains a compound of the formula 1 such as ginsenoside Rc, ginsenoside Mc, compound Y, compound K, protopanaxadiol or protopanaxatriol, and a pharmaceutically acceptable salt as a main component. In formula, R₁ is H or Glu-Glu, R₂ is H or OH, R₃ is H, glucose, Ara(p)-Glu or Ara(f)-Glu.

COPYRIGHT KIPO 2003

Legal Status

Date of final disposal of an application (20040730)
Patent registration number (1004486670000)
Date of registration (20040903)
Date of opposition against the grant of a patent (00000000)

BEST AVAILABLE COPY

(19) 대한민국특허청 (KR)
(12) 공개특허공보 (A)

(51) . Int. Cl. 7
A61K 31/70

(11) 공개번호 특2002 - 0084311
(43) 공개일자 2002년11월07일

(21) 출원번호 10 - 2001 - 0022385
(22) 출원일자 2001년04월25일

(71) 출원인 (주) 디지털바이오텍
경기도 안산시 신길동 1227

(72) 발명자 목인회
경기도성남시분당구수내동27양지마을301 - 101
정민환
경기도성남시분당구수내동27양지마을301 - 101
정석재
서울특별시강남구압구정동현대아파트74 - 606

(74) 대리인 이현실
장성구

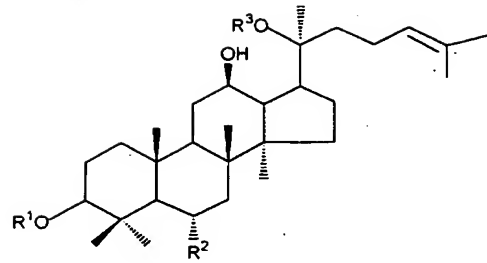
심사청구 : 있음

(54) 진세노사이드 가수분해물을 함유하는 퇴행성 뇌질환의 예방 및 치료용 조성물

요약

본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 그의 약학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 하는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 조성물은 치매, 파킨슨병, 뇌졸중, 헌팅턴병 등의 퇴행성 뇌질환에 대해 우수한 예방 및 치료 효과를 나타낸다.

화학식 1



상기 식에서,

R¹ 은 H 또는 Glu - Glu이고,

R² 는 H 또는 OH이고,

R³ 는 H, 글루코스, Ara(p) - Glu 또는 Ara(f) - Glu이다.

대표도

도 1

명세서

도면의 간단한 설명

도 1은 인삼 진세노사이드 Rc 및 Mc, 진세노사이드의 가수분해산물인 화합물 Y, PPD, PPT의 베타아밀로이드에 의한 독성 방지 효과를 확인한 MTT 시험 결과이고,

도 2는 PPT의 농도에 따른 베타아밀로이드 독성 방지 효과를 확인한 MTT 시험 결과이고,

도 3은 진세노사이드의 가수분해산물인 화합물 Y, PPD, PPT의 항산화제 작용에 의한 베타아밀로이드 독성 방지 효과를 확인한 시험 결과이고,

도 4는 진세노사이드 Rc 및 Mc, 진세노사이드의 가수분해산물인 화합물 Y, PPD, PPT가 스타우로스포린(staurosporin)에 의해 유도된 아포토시스에 미치는 영향을 확인한 시험 결과이고,

도 5는 PPD 및 PPT가 베타아밀로이드를 분해하는 α - 시크리테이즈의 분비량을 증가시킴을 확인한 웨스턴 블롯 결과이고,

도 6은 진세노사이드 Rc 및 Mc, 진세노사이드의 가수분해산물인 화합물 Y의 투여가 공간지각 능력을 향상시킴을 확인한 수 미로(water maze) 시험 결과이고,

도 7a 및 7b는 진세노사이드 Rc 및 Mc, 진세노사이드의 가수분해산물인 화합물 Y, PPD, PPT의 시냅스 증가 효과를 확인한 웨스턴 블롯 결과이고,

도 8a 및 8b는 진세노사이드 Rg1 및 Rb1가 투여된 래트의 뇌 조직 시료 중의 진세노사이드 Rg1 및 Rb1의 LC-mass를 이용한 분리 피크를 각각 나타내고,

도 9a 및 9b는 진세노사이드 Rg1 및 Rb1의 LC-mass를 이용한 정량곡선을 각각 나타내고,

도 10a 및 10b는 진세노사이드 Rg1 및 Rb1가 투여된 래트의 뇌 조직 시료 중의 PPT 및 PPD의 LC-mass를 이용한 분리 피크를 각각 나타내고,

도 11a 및 11b는 진세노사이드 Rg1 및 Rb1가 투여된 래트의 혈장 및 뇌 조직 시료 중 진세노사이드 Rg1 및 Rb1의 경시적 농도 추이를 각각 나타내고,

도 12a 및 12b는 진세노사이드 Rg1 및 Rb1가 투여된 래트의 혈장 및 뇌 조직 시료 중 PPT 및 PPD의 경시적 농도 추이를 각각 나타낸다.

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

현대사회에서는 노령 인구의 급격한 증가로 인해 노화와 관련된 노인성 치매(senile dementia)의 발생이 심각한 사회 문제로 대두되고 있다. 이 질환은 발병율이 높은데도 불구하고 현재 뚜렷한 치료제나 예방제가 없어 막대한 사회경제적인 손실을 유발하고 있다.

알츠하이머 병은 노인성 치매중에서 가장 주요한 질환으로, 지금까지 이에 대한 치료제의 개발이 힘들었던 가장 큰 이유 중의 하나는 병의 원인이 확실히 밝혀져 있지 않다는 것이었다. 그러나 최근의 임상적, 유전학적, 분자생물학적 및 세포생물학적 연구 결과에 따라, 베타아밀로이드의 뇌내 축적과 그로 인한 신경독성이 발병의 매우 중요한 원인으로 밝혀졌다(Selkoe, Annu. Rev. Neurosci., 17:489-517(1994)). 따라서 노인성 치매의 치료제 개발을 위해서는 베타아밀로이드의 생성저지, 또는 독성저지 효과를 가지면서 부작용이 적은 물질의 개발이 매우 시급하다.

현재 미국 FDA의 공인을 받아 시판되고 있는 노인성 치매 치료제로는 택크린(tacrine(Cognex사))과 도네페질(donepezil(Aricept사))이 있다. 이들은 모두 신경전달물질의 일종인 아세틸콜린의 활성을 증가시키는 물질들로 약 20-40%의 환자에서만 치매의 진행을 약간 늦추는 효과를 나타낸다.

아세틸콜린 활성제의 효과가 실망스럽게 나타나자 뇌에서 가장 흔한 신경전달물질인 글루타메이트의 작용을 활성화시키려는 약이 개발중이다. 앰파카인(Ampakine)은 뇌에서 가장 흔한 신경전달물질인 글루타메이트의 작용을 활성화시키는 제제로 동물시험과 유럽에서의 임상시험을 거쳐, 현재는 개발회사인 코텍스 파마슈티칼스(Cortex Pharmaceuticals)와 NIH가 공동으로 미국에서 임상시험 중이다. 개발에 성공하면 아세틸콜린 활성제보다는 좋은 효과를 보일 것으로 예상된다.

유리기(free radical)는 그 독성으로 인해 알츠하이머병의 진전을 촉진시키는 것으로 알려져있다. 또한 체코에서 행해진 연구에 의하면 항산화제인 셀레질린(selegiline)이 알츠하이머병 환자들의 기억력을 증진시키는 것으로 알려졌다. 따라서 비타민 A, C, E, 셀레늄, 베타-카로틴 등의 항산화제가 알츠하이머병의 진전을 억제할 것으로 생각된다.

파킨슨병은 노년층에 다발하는 중추신경계 퇴행성질환으로, 사지진전, 근육강직, 운동개시 곤란 등의 증세가 나타나고, 정신적인 우울증을 동반할 수 있다. 파킨슨병 환자의 뇌에서는 중뇌 흑색질(substantia nigra)의 도파민성 신경세포의 변성과 사멸에 의해 그 목표부위인 선조체(neostriatum)에서의 도파민 함량이 현저하게 저하되어 있다(Fahn S., Parkinson's disease in: Diseases of the nervous system, (ED) by A. Asbury, G Mckhann, pp.1217-1238, Saun

ders, 1986). 즉 파킨슨병의 원인은 흑색질 도파민성 신경세포의 사멸이 직접적인 원인으로 알려져 있다.

파킨슨병의 치료를 위해서는 중뇌 흑색질 도파민성 신경세포의 사멸을 방지하고 재생시키는 방법이 가장 좋은 치료법이라고 할 수 있으나 현재까지 파킨슨병 환자의 도파민성 신경세포 사멸을 효과적으로 방지하고 신경계를 재생시키는 치료법이 전무한 실정이다. 이에 대한 이유중의 하나로는 신경세포 사멸의 정확한 원인이 밝혀져 있지 않은 것을 들 수 있다. 그러나 그 동안의 연구성고가 축적되어 파킨슨병에 동반되는 신경세포 사멸에 대한 원인들이 밝혀지고 있는데, 제안된 바로는 산화 스트레스(oxidative stress), 에너지 대사 이상, 미토콘드리아 유전자의 돌연변이, 흥분성 아미노산 독성(Excitatory amino acid toxicity), 칼슘 농도의 변화 등이 원인이 되어 결국 세포사를 일으킨다고 알려져 있다. 특히 산화 스트레스가 파킨슨병에 동반되는 도파민성 신경세포 사멸에 주요 원인이라는 증거들이 많이 축적되어 있다(Fahn, S. and Cohen, G., Ann. Neurol., 32(6):804 - 812 (1992); Foley P. and Riederer P., J. Neurol., 247[S ppl. 2] 11/82 - 11/94 (2000)). 따라서 효과적인 파킨슨병 치료제의 개발을 위해서는 산화스트레스를 중심으로 세포사멸을 유도하는 이러한 일련의 과정들이 진행되는 것을 방지하면서 뇌에 잘 침투하는 물질의 개발이 필요하다. 더불어 이미 퇴행과정을 밟고있는 신경계를 재생시킬 수 있는 효과를 가진 물질의 개발이 필요하다.

뇌졸중은 가장 흔한 뇌질환으로 급작스런 혈관의 폐색이나 출혈에 의한 산소 및 에너지원 공급차단에 따르는 신경세포의 사멸에 의해 발생한다. 뇌졸중에 있어서 신경세포 사멸의 주원인으로는 1) 흥분성 신경 전달물질인 글루타메이트가 NMDA, AMPA, 카이닌산(kainic acid) 등에 의해 활성화되는 이온성 수용체를 통한 사멸 (glutamate excitotoxicity), 2) 산화적 독성 (산화 스트레스 또는 유리기 독성), 3) 아포토시스(고사 또는 예정사)가 제시되고 있다. 뇌졸중이 일어난 후 이러한 일련의 과정들을 통해 세포사멸이 급속히 진행되는데, 이러한 과정의 진행을 억제하여 세포사멸을 저지하는 물질의 개발이 필요하다. 이 물질은 혈액 - 뇌 장벽(blood - brain barrier)를 잘 통과하여 뇌로 용이하게 침투하여야 한다. 더불어 생존한 신경세포들 사이의 시냅스 형성을 촉진시키는, 즉 신경계를 재생하는 물질의 개발이 필요하다. 그러나 현재까지 효과적인 뇌졸중 치료제는 개발되어있지 않다.

헌팅턴병은 신경퇴행성 유전질환으로 가장 흔히 관찰되는 유전성 신경계 질환 형태들 중의 하나이다. 증상의 특징은 1) 성격변화, 우울증 등의 정신장애와 2) 운동의 이상으로 나타난다. 발병률은 대체로 백만명당 4 - 5명으로 대체적인 발병 연령은 30 - 40대이지만 15세 이전, 심지어는 소아기에 시작되는 경우도 있다(Adams R.D., Victor M. and Ropper A.H., Principles of Neurology, 6th ed. Singapore: McGraw - Hill, 1997).

헌팅턴병은 뇌의 기저핵(basal ganglia)과 대뇌피질의 신경세포의 선택적인 소실로 발병된다. 특히 미상핵(caudate nucleus)과 피각(putamen)의 두부에서 현저한 위축이 발견되며, 흔히 전두엽과 측두엽에서 중등도의 뇌회위축도 동반된다. 1993년 헌팅턴병의 원인유전자가 클로닝되었으며, 그 유전자 산물은 헌팅틴(huntingtin)이라는 단백질이다. 헌팅틴에 돌연변이가 일어났을 때 어떠한 기전으로 신경세포사가 일어나는가에 대한 메커니즘은 정확히 알려져있지 않으나 현재 활발한 연구가 진행중이다. 현재까지 알려진 바로는 캐스페이즈(caspase)라는 효소가 중요한 역할을 한다는 점, 그리고 세포사를 일으킬 때 산화 스트레스가 중요한 역할을 할 것이라는 점이 있다(Gutekunst C.A., Norflus F., and Hersch S.M., Curr. Opin. Neurol., 13:445 - 450 (2000)).

현재 헌팅턴병에 대한 뚜렷한 치료법은 없는 실정이다. 환자의 운동 장애를 억제하기위해 도파민 길항제인 할로페리돌(haloperidol)이 가장 널리 사용되고 있다. 기타 레세르핀(reserpine), 클로자핀(clozapine), 테트라바나진(tetrabazine)과 같은 도파민 길항제는 헌팅턴병을 억제하는 효과가 있으나 졸음, 정좌불능증, 만발성 운동이상증 등의 부작용이 크다(Adams 등, 상기 문헌 참조). 할로페리돌을 비롯한 이러한 약들은 행동의 이상, 감정이 쉽게 변하는 등의 증상은 경감시킬 수 있으나 질환의 진행은 막지 못한다.

유리기(free radical)에 의한 산화 스트레스는 체내의 각 조직에서 일어나는 세포사멸의 주원인으로 보고되고 있는데, 신경계질환에서 나타나는 세포사멸의 주기전의 하나로 제시되어왔다(Halliwell, B. and Gutteridge, J.M., *Mol. Aspects. Med.*, 8(2):89 - 193 (1985); Siesjo, B.K., Agardh, C.D., and Bengtsson, F., *Cerebrovasc. Brain Metab. Rev.*, 1(3):165 - 211 (1989); Schapira, A.H., *Curr. Opin. Neurol.*, 9(4):260 - 264 (1996)). 세포내 유리의 생성이 증가하면, 지질 과산화에 의한 막지질의 파괴, OH⁻에 의한 DNA 손상, 이중결합구조나 -SH를 포함하는 산화반응에 의해 단백질의 변성등은 신경세포의 사멸로 나타날 수 있다. 신경계 질환에서 보이는 신경세포의 사멸에 유리가 관여한다는 증거로는, 허혈 후 반응성 산소종(reactive oxygen species)의 생성증가 및 항산화제에 의한 허혈성 신경세포의 사멸억제효과(Flamm, E.S. et al., *Stroke*, 9(5):445 - 447 (1978); Kogure, K. et al., *Prog. Brain Res.*, 63:237 - 259 (1985); Chan, P.H., *J. Neurotrauma.*, 9 Suppl 2:S417 - 23 (1992)), 파킨슨병 환자뇌 흑질에서 Fe²⁺의 증가, 환원 글루타치온의 감소, 글루타치온 과산화효소의 감소, 카탈레이즈(catalase)의 감소, 도파민의 산화작용에 의한 유리의 생성(Sofic, E. et al., *J. Neural Transm.*, 74:199 - 205 (1988); Fahn & Cohen, 상기 문헌 참조), 헌팅턴병의 선조체에서 Fe²⁺의 증가(Dexter, D.T. et al., *Ann. Neurol.*, 32 Suppl:S94 - 100 (1992)), 알츠하이머병에서 나타나는 베타 아밀로이드에 의한 유리의 생성(Schubert, D., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 92(6):1989 - 1993 (1995); Richardson, J.S., Zhou, Y., and Kumar, U., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 777:362 - 367 (1996)), 가족성 ALS에서 Cu/Zn 슈퍼옥사이드 디스뮤테이즈(SOD-1)유전자에서의 점 돌연변이(Rosen, D.R. et al., *Nature*, 362(6415):59 - 62 (1993)) 등을 들 수 있다. 이와 같이 다양한 실험결과들이 산화 스트레스가 다양한 퇴행성 신경질환의 주요 원인으로 작용한다는 것을 퇴행성 신경질환들의 치료제를 개발함에 있어서 산화 스트레스에 의한 신경세포사멸을 억제하는 것이 매우 중요한 목표점이 되고 있다.

본 발명자들은 퇴행성 뇌질환의 치료제를 개발하기 위해 연구를 거듭한 결과, 최근 인삼(*Panax ginseng*)의 성분 중 진세노사이드(ginsenoside) Rb1과 Rg1이 베타아밀로이드의 독성으로부터 신경세포를 보호하는 강력한 효과가 있음을 발견하였고 이를 특허로 출원한 바 있다(한국 특허출원 제 99-28866호). 인삼은 생약이며 수천년간 사용되어 왔으므로 큰 부작용이나 독성이 없을 것으로 예측된다. 또한 베타아밀로이드의 독성으로부터 신경세포를 보호하므로 노인성 치매의 진전을 막는 근본적인 치료제가 개발될 가능성이 매우 높다.

뇌질환인 치매를 치료하는 약물은 반드시 폐쇄시스템인 혈액 뇌 장벽(Blood Brain Barrier; BBB)를 통과해야 하므로 분자량이 1,000이나 되는 진세노사이드 Rb1과 Rg1과 같은 전체 분자가 통과되었으리라 생각하기가 힘들다. 따라서, 본 발명자들은 BBB를 통과하여 베타아밀로이드의 독성을 저지하는 작은 분자가 실제로 효능을 나타낼 것이라는 생각에 근거하여 진세노사이드의 가수분해 산물인 화합물 Y 및 K, 진세노사이드 Mc, 프로토파낙사디올(Protopanaxadiol; P PD) 및 프로토파낙사트리올(Protopanaxatriol; PPT)과 아직까지 효능이 알려져 있지 않은 진세노사이드 Rc를 대상으로 실험한 결과, 이들이 베타아밀로이드 독성 및 생성 저해 효과, 및 신경세포 보호 효과를 나타냄을 발견하여 본 발명을 완성하였다.

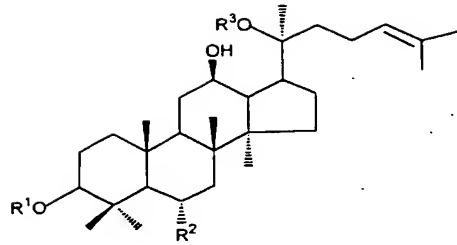
발명이 이루고자 하는 기술적 과제

본 발명의 목적은 퇴행성 뇌질환의 예방 및 치료에 유용한 활성물질을 함유하는 약학 조성물을 제공하는 것이다.

발명의 구성 및 작용

상기 목적에 따라, 본 발명에서는 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 그의 약학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 하는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료용 조성물이 제공된다:

화학식 1



- 상기 식에서,

R^1 은 H 또는 Glu - Glu - 이고,

R^2 는 H 또는 OH이고,

R^3 는 H, 글루코스, Ara(p) - Glu - 또는 Ara(f) - Glu - 이다.

본 발명에서, "아라비노 글루코실(Ara(p) - Glu)" 는 피라노즈 형태의 아라비노즈 1분자와 글루코스 1분자가 결합된 것, "아라비노 글루코실(Ara(f) - Glu)" 는 푸라노즈 형태의 아라비노즈 1분자와 글루코스 1분자가 결합된 것을 의미한다.

본 발명에서 바람직한 화학식 1의 화합물들은 하기 표 1에 기재된 것들이다.

[표 1]

화합물	R^1	R^2	R^3
PPD	H	H	H
PPT	H	OH	H
화합물 Y	H	H	Ara(p) - Glc -
화합물 K	H	H	Glc
진세노사이드 Mc	H	H	Ara(f) - Glc -
진세노사이드 Rc	Glc - Glc -	H	Ara(f) - Glc -

본 발명에서 특히 바람직한 화합물들은 프로토파낙사디올(PPD) 및 프로토파낙사트리올(PPT)이다.

상기 화학식 1의 화합물들은 통상적인 방법에 따라, 예를 들어, 알칼리 금속염(예: 나트륨염, 칼륨염 등), 알칼리토금속염(마그네슘염, 칼슘염 등)과 같은 무기금속염, 암모늄염, 유기염기염(예: 트리메틸아민염, 트리에틸아민염, 피리딘염, 피콜린염 등) 등 당업계에 공지된 다양한 약학적으로 허용되는 염의 형태로 제조될 수 있다.

본 발명의 화합물들은 베타아밀로이드의 독성 및 생성을 저해하고, 신경세포를 보호하는 항산화작용을 하며, 생체내(in vivo)에서 BBB를 통과하여 공간 지각능력을 향상시키고 신경세포의 시냅스 밀도(synaptic density)를 증가시킴으로써, 치매, 파킨슨병, 뇌졸중, 헌팅턴병 등의 퇴행성 뇌질환에 대해 우수한 예방 및 치료 효과를 나타낸다. 본 발명의 화합물들은 베타아밀로이드를 절단하는 α - 시크리테이즈(α - secretase)의 활성을 증가시키거나 베타아밀로이드의 생성에 필수적인 단백질 분해효소인 β - 시크리테이즈(β - secretase)의 활성을 억제함으로써 베타아밀로이드의 생성을 저해한다.

본 발명의 조성물을 사용하여 통상적인 방법에 따라 약학 제형을 제조할 수 있다. 제형의 제조에 있어, 활성 성분을 담체와 함께 혼합하거나, 담체로 희석하거나, 캡셀, 새세이 또는 기타 용기 형태의 담체내에 봉입시키는 것이 바람직하다. 따라서, 제형은 정제, 환제, 분말, 새세이, 엘릭서, 현탁액, 에멀전, 용액, 시럽, 에어로졸, 연질 또는 경질 젤라틴 캡셀, 멸균 주사용액, 멸균 분말 등의 형태일 수 있다.

적합한 담체, 부형제 및 희석제의 예로는, 락토즈, 덱스트로즈, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸하이드록시벤조에이트, 프로필하이드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제형은 충전제, 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제, 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다. 본 발명의 조성물은 포유 동물에 투여된 후 활성 성분의 신속, 지속 또는 지연된 방출을 제공할 수 있도록 당업계에 잘 알려진 방법을 사용하여 제형화될 수 있다.

본 발명의 약학적 조성물은 경구, 경피, 피하, 정맥 또는 근육을 포함한 여러 경로를 통해 투여될 수 있다. 본 발명의 조성물의 통상적인 1일 투여량은 유효성분으로서 1 내지 100 mg/kg 체중, 바람직하게는 1 내지 10 mg/kg 체중의 범위일 수 있고, 1회 또는 수회로 나누어 투여할 수 있다. 그러나, 활성 성분의 실제 투여량은 치료할 질환, 투여 경로, 환자의 연령, 성별 및 체중, 및 질환의 중증도 등의 여러 관련 인자에 비추어 결정되어야 하는 것으로 이해되어야 하며, 따라서, 상기 투여량은 어떠한 방법으로도 본 발명의 범위를 한정하는 것이 아니다.

이하에서 본 발명을 실시예에 의거하여 보다 구체적으로 설명한다. 단, 이들 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 본 발명이 이들만으로 한정되는 것은 아니다.

참조예: 시험물질

실시예에서 사용된 화합물 Y 및 K, 진세노사이드 Mc 및 Rc, 프로토파낙사디올(PPD) 및 프로토파낙사트리올(PPT)은 문헌(Advances in Ginseng Research, (인용부분), 1998, The Korean Society of Ginseng(한국인삼학회) 발간)의 방법에 따라 제조하였다.

실시예 1: 베타아밀로이드 독성 방지 효과

인삼에서 분리된 물질들의 베타아밀로이드 독성 방지 효과를 조사하기 위해 다음과 같이 MTT 분석법(Gillard, F. et al., Brain Research, No.6: pp.169 - 172(1996))을 실시하였다.

96 - 웰 플레이트에 신경아세포종(neuroblastoma) B103 세포주 (미국 Salk Institute의 Dr. David Schubert에게서 공여받음) 5×10^3 세포를 100 μ l의 배지[DMEM (Dulbecco's minimal Eagle's medium) + 10% FBS (fetal bovine serum)]와 함께 접종한 후 8 % CO₂, 37°C에서 하루동안 배양하였다. DMEM으로 배지를 갈아준 후, 시험 화합물을 농도별로 처리하고 1시간 후 베타아밀로이드(25 - 35 펩타이드; US peptide, CA, 미국)를 25 μ M 농도로 처리하였다. 이 플레이트를 37°C에서 18시간 동안 배양한 후 MTT 용액[인산염 완충식염수(PBS)에 3 - (4,5 - 디메틸 - 2 - 티아졸릴) - 2,5 - 디페닐 - 2H - 테트라졸리움 브로마이드가 10 mg/ml 농도로 녹아있는 용액] 15 μ l를 처리하고 37°C에서 3 내지 4시간동안 반응시켰다. 100 μ l의 용해 완충액(10 % SDS, 50 % 디메틸포름아미드, pH 4.7)을 가하고 상대습도 90 %의 박스내에 실온에서 밤새 반응시켰다. 분광광도계(scanning multiwell spectrophotometer)를 이용하여 570 nm 및 630 nm에서 각 웰의 흡광도를 측정한 후 570 nm의 흡광도 값에서 630 nm의 흡광도 값을 감하였다.

베타아밀로이드만을 넣어준 신경세포군을 100%로 잡았을때, 화합물 Y, 진세노사이드 Mc 및 Rc, PPD 및 PPT를 처리한 신경세포군의 상대적 생존율을 계산하여 표 2 및 도 1과 같은 결과를 얻었으며, 계산된 값들이 통계적 유의성이 있음을 검증하였다.

[표 2]

시험 화합물	시험물질 농도(μ M)	효과(%)
베타 아밀로이드($A\beta$)	25(고정)	100
Rc	1	161.0 ± 4.9
Rc+ $A\beta$	1	106.0 ± 0.9
Rc	10	126.7 ± 3.7
Rc+ $A\beta$	10	107.2 ± 1.9
Y	1	157.7 ± 3.2
Y+ $A\beta$	1	102.8 ± 1.5
Y	10	123.5 ± 4.6
Y+ $A\beta$	10	115.5 ± 3.5
Mc	1	148.0 ± 6.3
Mc+ $A\beta$	1	106.1 ± 2.4
PPD	1	137.7 ± 4.8
PPD+ $A\beta$	1	106.7 ± 6.9
PPT	1	157.4 ± 3.3
PPT+ $A\beta$	1	106.6 ± 1.2
PPT	10	140.3 ± 6.4
PPT+ $A\beta$	10	119.7 ± 8.5

또한, 이 실험 결과는 처리전의 경우이나, 시험 화합물과 베타아밀로이드를 동시에 처리한 경우 또는 베타아밀로이드 처리 1시간 후에 시험화합물을 처리한 경우에도 효과는 거의 같게 나타나며, 모든 경우에 베타아밀로이드에 의한 독성을 방지하는 것을 확인하였다.

또한, 시험물질의 농도에 따른 베타아밀로이드 독성 저해 효과를 확인하기 위해 시험물질로서 PPT를 10 nM 내지 10 μ M 범위 농도로 사용하여 상기와 같은 실험을 반복하였다. 그 결과, 도 2에서 볼 수 있는 바와 같이 PPT는 낮은 농도(nM 범위)에서는 베타아밀로이드 독성 저해에 있어서 별효과를 나타내지 못하고 μ M 범위에서 그 저해효과를 나타내기 시작하였다.

실시예 2: 항산화 효과

베타아밀로이드의 독성을 방지하는 기전은 크게 산화 스트레스(혹은 유리기 손상)의 차단 및 아포토시스(혹은 예정 세포사)의 차단으로 나눌 수 있다(Becl, C. et al., Cell, 77: pp817 - 827 (1994); Yamatsuji, T. et al., Science, 272: pp1349 - 1352 (1996))

인삼 유래 화합물들이 산화 스트레스를 방지시키는가를 살펴보기 위하여, 베타아밀로이드 대신 1 μ M의 H_2O_2 를 사용하는 것을 제외하고는 실시예 1과 동일한 방법으로 신경세포사를 유도하였다. 그 결과, 하기 표 3 및 도 3에 나타낸 바와 같이 시험 화합물들은 모두 H_2O_2 에 의한 신경세포사를 방지하였으므로 항산화제의 역할을 함을 알 수 있다.

[표 3]

시험 화합물	시험물질 농도(μ M)	효과(%)
H ₂ O ₂	1 (고정)	100
Y	1	486.5 \pm 2.1
Y + H ₂ O ₂	1	469.1 \pm 5.2
PPD	1	494.3 \pm 3.5
PPD + H ₂ O ₂	1	219.6 \pm 3.0
PPT	1	516.1 \pm 1.6
PPT + H ₂ O ₂	1	381.3 \pm 0.9
PPT	10	516.5 \pm 1.2
PPT + H ₂ O ₂	10	457.8 \pm 2.5

- 한편, 인삼 유래 화합물들이 아포토시스를 방지하는지를 살펴보기 위하여, 베타아밀로이드 대신 0.1 μ M의 스타우로스 포린(staurosporin)을 사용하는 것을 제외하고는 실시예 1과 동일한 방법으로 신경세포의 아포토시스를 유도하고 여기에 인삼관련 물질들을 투여하여 세포의 생존정도를 조사하였다. 그 결과, 하기 표 4 및 도 4에서 볼 수 있는 바와 같이 인삼 유래 화합물들은 아포토시스를 차단하지 못하는 것으로 밝혀졌다.

[표 4]

화합물	시험물질 농도(μ M)	효과(%)
스타우로스포린(S)	0.1 (고정)	100
Rc	1	191.4 \pm 4.9
Rc + S	1	97.0 \pm 4.8
Y	1	170.3 \pm 2.1
Y + S	1	96.7 \pm 2.0
Mc	1	178.6 \pm 6.3
Mc + S	1	101.1 \pm 2.7
PPD	1	176.5 \pm 3.5
PPD + S	1	89.2 \pm 1.0
PPT	1	169.7 \pm 1.6
PPT + S	1	107.8 \pm 2.3
PPT	10	173.1 \pm 1.2
PPT + S	10	104.6 \pm 2.7

따라서, 인삼 유래 화합물들은 아포토시스를 차단하기보다는 산화 스트레스를 차단함으로써 베타아밀로이드의 독성을 방지함을 알 수 있다.

실시예 3: sAPPa (α - Secretase derived secreted form of amyloid precursor protein) 분비량 증가

인삼 유래 화합물들이 베타아밀로이드 생성을 저해하는지를 살펴보기 위하여 베타아밀로이드의 가운데를 자르는 α - 시크리테이즈(α - secretase)의 활성을 조사하였다.

APP(amyloid precursor protein: 아밀로이드 전구대사 단백질)를 분비하는 신경아세포종(neuroblastoma) B103 세포주 (미국 Salk Institute의 Dr. David Schubert에게서 공여받음)를 DMEM + 10 % FBS 배지가 들어있는 100 mm 디쉬에 1000 K 로 플레이팅한 후 37 $^{\circ}$ C, 8 % CO₂ 조건으로 밤새 배양하였다. 배지를 무혈청 DMEM(Gibco, 미국)으로 갈아준 다음 PPD, PPT 및 PDBu(phorbol - 12,13 - dibutyrate: Sigma Co., 미국)를 각각 1 μ M 및 10 μ M 의 농도로 가하여 18 시간동안 더 배양하였다. 각 배양액으로부터 상층액을 분리하고 농축용 필터(viva spin centricon, 입수처: Vivascience, Binbrook Hill, Binbrook, 영국)으로 농축하였다. 농축액 중의 단백질을 정량하여 2 μ g/ml의 농도로 시료를 준비하고 8 % SDS - PAGE 젤에서 전기영동하였다.

젤상의 단백질 밴드를 PVDF (polyvinylidene fluoride) 막 (Millipore Co., Bedford, MA, 미국)에 옮기고 5 % 탈지유 (skim milk)로 블로킹한 후 sAPP α 특이적인 항체인 6E10(1:2000 희석, Cat. No. 320-05, Senetek, Maryland heights, MO, 미국)을 가하고 상온에서 2시간동안 PVDF막과 반응시켰다. 반응이 끝난 다음 PBS로 3회 세척한 후 2차 항체인 항-마우스 IgG(Amersham Pharmacia, Piscataway, NJ, 미국)의 1:3000 희석액을 가하여 1시간 동안 상온에서 반응시켰다. 항체의 반응정도를 보기 위하여 ECL(enhanced chemiluminescence) 검출 키트(Amersham Pharmacia, Piscataway, NJ, 미국)를 사용하여 단백질 밴드를 확인하였다. 막 위의 단백질 밴드는 화상분석(image analysis)을 통하여 정량화하였다.

그 결과, PPT를 처리한 시험군에서는 PPT를 처리하지 않은 대조군에 비해 sAPP α 의 분비량이 더 증가하였다(도 5).

· 실시예 4: β -시크리테이즈(β -secretase) 저해 효과

- 인산 유래 화합물들이 베타아밀로이드 생성에 필수적인 단백질 분해 효소인 베타시크리테이즈의 활성을 억제하는지를 확인하기 위해 다음과 같은 실험을 실시하였다. 비교군으로는 이미 베타시크리테이즈의 활성저해제로 알려진 펩타이드 H4848 (Bachem 에서 구입)를 사용하였고 PPD 및 PPT를 실험물질로 사용하였다.

APP를 분비하는 신경아세포종 B103 세포주를 DMEM + 10 % FBS 배지가 들어있는 100 mm 디쉬에 1500 K 로 플레이트한 후 밤새 배양하고 MEST 완충액(20 mM MES, 0.15 M NaCl, 0.5 % 트리톤 X-100, pH 6.0 (입수처 : Bachem))으로 세포를 터뜨려서 세포 추출물을 만들었다.

하기 표 5와 같은 양으로 200 mM 아세트산 나트륨 (pH 4.5) 완충액, 증류수, β -시크리테이즈 저해제, β -시크리테이즈의 기질로서 5 μ M의 M2465(Bachem) 및 MEST 완충액을 순서대로 혼합하였다. 혼합액을 37℃에서 10분간 반응시킨 후 표 5와 같은 양으로 세포 추출물을 가하였다.

[표 5]

		첨가량(μ l)				
		완충액	증류수	효소저해제	기질	MEST 완충액
공시험군		5	37.5	.	2.5	5
대조군		5	37.5	.	2.5	3.8
비교군H4848(100 nM)		5	32.5	5	2.5	3.8
시험군	PPT(100 nM)	5	32.5	5	2.5	3.8
	PPT(1 μ M)	5	32.5	5	2.5	3.8
	PPT(10 μ M)	5	32.5	5	2.5	3.8
	PPT(100 μ M)	5	32.5	5	2.5	3.8

얻어진 혼합액을 37℃에서 2시간동안 반응시킨 후 360 nm 여기(excitation) 후 508 nm 방출(emission) 파장으로 플루오로미터(fluorometer)로 판독하였다. 효소의 저해효과는 대조군 대비 저해정도로 나타내었다.

그 결과, 하기 표 6에서 보는 바와 같이, 실험군에서 비교군과 비슷하게 베타-시크리테이즈의 활성을 막는 현상을 관찰하였으며, PPT의 농도가 높아질수록 효소의 저해효과가 커짐을 확인하였다.

[표 6]

	PPT 처리농도			
	100 nM	1 μ M	10 μ M	100 μ M
효소저해효과(% of control)	0	0.6	3.31	18.1

실시예 5: 생체내 (in vivo) 행동실험

시험관내에서 베타아밀로이드 독성 방지 효과를 나타낸 진세노사이드 Rc 및 Mc, 화합물 Y 및 K, PPD, PPT를 대상으로 생체내에서의 활성을 확인하기 위해, 공간지각능력을 측정하는 수 미로 (water maze) 시험을 수행하였다 (Mook - Jung et al., J. Neuro. Res., 63: pp509 - 515 (2001)).

그 결과, 도 6에서 볼 수 있는 바와 같이 진세노사이드 Rc 또는 Mc, 또는 화합물 Y를 투여한 군에서는 생리식염수만을 투여한 대조군에서보다 플랫폼을 찾아가는 속도가 훨씬 빨랐다. 또한, 화합물 K, PPD 또는 PPT를 투여한 군에서도 유사한 결과가 관찰되었다.

이러한 결과는 인삼에서 유래된 진세노사이드 Rc 및 Mc, 화합물 Y 및 K, PPD, PPT의 투여에 의해 인지기능, 특히 공간지각능력이 향상된 것을 의미하는 것이다.

실시예 6: 시냅스 밀도 (Synaptic density) 증가

C57BL/6 mice (9주령, 25g 정도) 의 복강에 진세노사이드 Rc 또는 Mc, 또는 화합물 Y 또는 K를 1 mg/kg의 양으로, 또는 PPD 또는 PPT를 0.5 mg/kg의 양으로 4일간 매일 1회씩 투여하였다. 4일 후에 쥐의 뇌를 적출하고 뇌의 해마와 피질을 분리하여 각각의 시냅스 소낭 (synaptic vesicle) 의 마커로 사용되는 시냅토파이신 (synaptophysin) 단백질의 양을 그 특이 항체 (Cat.# 902 314, Boehringer Mannheim, 독일) 를 사용하여 웨스턴 블롯 LAS100 (densitometer, Fujifilm, 일본) 과 화상분석 방법으로 정량화하였다.

그 결과, 도 7a 및 7b에서 볼 수 있는 바와 같이 생리식염수만을 투여한 군에서는 변화가 없었으나 PPD 및 PPT를 투여한 쥐에서는 해마에서 시냅토파이신의 양이 현저히 증가하였으며 피질에서는 별 변화가 관찰되지 않았다. 이 결과는 복강으로 투여한 PPD, PPT 등이 뇌로 들어가 뇌의 신경세포의 시냅스 밀도를 증가시킨 것을 의미한다. 또한, 진세노사이드 Rc 또는 Mc, 또는 화합물 Y 또는 K를 투여한 경우에도 유사한 결과를 얻었다.

실시예 7: BBB 투과도

인삼 유래 화합물들을 생체내에 투여했을 때 BBB를 투과하여 활성을 나타내는 물질을 확인하기 위해 다음과 같이 실시하였다.

(단계 1) 시료의 제조

(1) 진세노사이드 시료의 제조 및 정량

진세노사이드 (Ginsenoside) Rg1과 Rb1 (ICN, 미국) 의 1 mg/ml 원액을 아세트니트릴로 연속 희석하여 최종 농도가 각각 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 1.0 μ g/ml 인 용액을 제조하였다. 이 용액 300 μ l를 플라스틱 튜브에 넣어 스피드 - 백 (speed - vac) 내에서 증발 건조하고 같은 양의 아세트니트릴을 가하여 0.3 ml의 표준용액을 제조하였다. 표준용액 20 μ l을 HP LC 컬럼 (Zorbax Eclipse XDB - C18, 2.1 mm x 15 cm) 과 질량 선택 검출기 (Mass selective detector) 가 장착된 LC mass 시스템 [Finnigan LCQ DECA (LC/MSn System)] 에 주입하여 정량하였다. 각 물질에 대한 분리 조건과 검출조건은 다음과 같다:

Rg1의 정량

이동상 - 아세토니트릴:탈이온수 (25 %:75 %)

유속: 0.5 ml/분

피크의 체류 시간: 2.1 분

검출 이온종: [M+H] (m/z) 801, [M+H] (m/z) 823 및 단편 이온 (m/z) 643으로 Rg1을 확인한 후 ESI SIM ms [822.40 - 825.40]의 신호를 검출하여 정량함.

Rb1의 정량

이동상: 아세토니트릴과 탈이온수 혼합액 전체량에 대한 아세토니트릴 분율을 20 % 내지 90 % 구배 (구배 속도: 5분 까지 (20 %→90 %), 이후 2분간 (90 %→20 %))

유속: 0.5 ml/분

피크의 체류 시간: 5.4 분

검출 이온종: [M+H] (m/z) 1109, [M+H] (m/z) 1131 및 단편 이온 (m/z) 325/365으로 Rb1을 확인한 후 ESI S IM ms [1130.50 - 1133.50]의 신호를 검출하여 정량함.

(2) 혈액 시료의 제조 및 정량

진세노사이드 Rg1과 Rb1의 1 mg/ml 원액을 아세토니트릴로 연속 희석하여 최종 농도가 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 인 용액을 제조하였다. 이 용액 300 μl 를 플라스틱 튜브에 넣어 스피드-백에서 증발 건조시킨 후 100 μl 의 혈장을 가하고 볼텍스(vortex)로 혼합하였다. 이 혼합액에 각각 200 μl 의 아세토니트릴을 가하고 5분간 볼텍스로 혼합한 후 3,000 rpm에서 20분간 원심분리했다. 그 상층액 270 μl 를 취해 스피드-백에서 증발 건조하고 270 μl 의 아세토니트릴을 가하여 재조성한 다음 그 20 μl 를 상기 (1)과 같은 LC mass 시스템에 주입하여 정량하였다.

(단계 2) 혈중 및 뇌중 약물 동태 조사

웅성 스프라그-돌리 래트(Sprague-Dawley rat) (체중 250 - 300 g)를 에테르로 가볍게 마취한 후 대퇴 동, 정맥에 폴리에틸렌 튜브 (PE - 50)로 카테터를 삽입하였다. 실험동물을 회복시킨 후 1 mg/kg의 Rg1, Rb1 생리식염수 용액을 각각 대퇴 정맥으로 정맥급속투여 (IV bolus administration)하였다. 투여후 2, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60분에 대퇴 동맥에서 300 μl 가량 채혈하고 원심 분리하여 100 μl 의 혈장을 얻었다. 얻어진 혈장으로부터 단계 1의 (2)와 동일하게 혈액시료를 제조하였다. 시료 20 μl 를 단계 1과 같은 LC mass 시스템에 주입하고 진세노사이드 Rg1 및 Rb1와 그 대사체 PPD 및 PPT를 정량하여 혈장중 농도를 혈장 ml당의 무게 (진세노사이드의 경우) 또는 피크 크기 (대사체의 경우)로 환산하였다.

혈액 시료를 취한 즉시 래트를 단두하여 얻은 뇌조직을 빙냉 염수로 가볍게 세척한 후, 무게를 측정한 15-ml 팔콘(Falcon) 튜브에 넣고 다시 무게를 정밀하게 달았다. 이 튜브에 뇌 조직 무게의 2배에 해당하는 아세토니트릴을 가하고 조직 균질화기 (Ultra-Turrax T25, JANKE& KUNKEL IKA - Labortechnik)로 균질화하였다. 이 혼합액을 3,000 rpm에서 20분간 원심분리하고 상층액 약 300 μl 를 취해 스피드-백에서 증발 건조한 다음 아세토니트릴 300 μl 로 재

조성했다. 이 혼합액 20 μ l를 단계 1과 같은 LC mass 시스템에 주입하여 진세노사이드와 그 대사체의 뇌중 농도를 정량하고 뇌조직 1 g당 각 물질의 무게 혹은 피크 크기로 나타내었다.

진세노사이드 Rg1 및 Rb1의 분리 및 검출 조건은 실시예 1의 (1)과 같고, 그 대사체 PPD 및 PPT에 대한 분리 조건과 검출 조건은 다음과 같다:

PPT의 정량

이동상 - 아세토니트릴:탈이온수 (25 %:75 %)

유속: 0.5 ml/분

피크의 체류 시간: 2.1 분

검출 이온종: [M+H] (m/z) 477 및 [M+Na] (m/z) 499로 PPT를 확인한 후 ESI SIM 모드 [497.50 - 500.50]의 신호를 검출하여 정량함.

PPD의 정량

이동상: 아세토니트릴과 탈이온수 혼합액 전체량에 대한 아세토니트릴 분율을 20 % 내지 90 % 구배 (구배 속도: 5분까지 (20 %→90 %), 이후 2분간 (90 %→20 %))

유속: 0.5 ml/분

피크의 체류 시간: 7.1 분

검출 이온종: [M+H] (m/z) 447 및 [M+Na] (m/z) 469로 PPD를 확인한 후 ESI SIM 모드 [467.50 - 470.50]의 신호를 검출하여 정량함.

(단계 3) 결과 및 해석

(1) Rg1, Rb1, PPD 및 PPT의 정량

물질의 뇌 이행률 (K_{brain})은 다음의 수학적식 1과 같이 물질의 뇌 중 평균 농도($C_{\text{mean,brain}}$)와 혈장 중 평균 농도($C_{\text{mean,plasma}}$)의 비로 표시할 수 있다.

수학적식 1

$$K_{\text{brain}} = \frac{C_{\text{mean,brain}}}{C_{\text{mean,plasma}}}$$

그런데 물질의 평균 농도는 농도 - 시간 곡선에서 0 - t 시간까지의 면적을 t로 나눔으로써 구할 수 있다. 따라서 물질의 뇌 이행률 (K_{brain})은 수학적식 2와 같이 쓸 수 있다.

수학식 2

$$K_{\text{brain}} = \frac{\frac{\int_0^t C_{\text{brain}} \cdot dt}{t}}{\frac{\int_0^t C_{\text{plasma}} \cdot dt}{t}} = \frac{AUC_{\text{brain}}}{AUC_{\text{plasma}}}$$

본 실시예에서 개발한 LC-mass 정량법에 따라, 1 mg/kg 용량의 Rg1 및 Rb1을 SD계 래트에 투여하고 얻어진 뇌 조직 시료 중의 진세노사이드 Rg1과 Rb1 피크는 내인성 물질과 잘 분리되었다(도 8a 및 8b). 또한 이 방법으로 상기 SD계 래트로부터 얻은 혈액시료로부터 정량할 수 있는 최소한의 Rg1과 Rb1 농도는 각각 50 ng/ml 및 100 ng/ml이었다(도 9a 및 9b). 따라서 이 방법은 생체 시료 중의 진세노사이드 농도 분석에 손쉽게 적용할 수 있다.

또한, 1 mg/kg 용량의 Rg1 및 Rb1을 SD계 래트에 투여한 후 15분에 얻어진 뇌조직 시료 중에서 LC-mass법을 사용하여 PPT와 PPD의 피크를 충분히 검출할 수 있었다(도 10a 및 10b).

(2) 혈중 및 뇌중 진세노사이드 Rg1 및 Rb1, PPD 및 PPT의 추이

진세노사이드 Rg1 및 Rb1을 1 mg/kg의 용량으로 SD계 래트에 투여하고 얻어진 혈장 및 뇌 시료 중의 진세노사이드 Rg1 및 Rb1의 경시적 농도 추이는 각각 도 11a 및 11b와 같다. 도 11a 및 11b에서 보듯이, 뇌중 약물 농도는 정량감도 이하의 값을 나타내었으며, 60분까지 혈장중 농도에 비해 뇌중의 약물 농도는 매우 낮았다(5.8 % 이하). 또한 진세노사이드 Rg1과 Rb1의 일련의 대사물의 농도를 혈장과 뇌조직 시료 중에서 검출한 결과 PPT(Rb1의 최종 대사물)을 제외하고는 혈장에 대한 뇌조직 중 농도비는 15 % 이하였다. 따라서 이들 PPT를 제외한 Rb1의 대사체, 진세노사이드 Rb1 및 Rg1과 그 대사체는 뇌로 잘 이행되지 않음을 확인하였다. 혈장 및 뇌 시료 중의 PPT 및 PPD의 경시적 농도 추이는 도 12a 및 12b에 각각 나타나 있으며, PPT의 경우는 혈장의 농도와 뇌조직 중 농도가 거의 유사하였다. 수학식 1 및 2로 계산한 PPT의 뇌이행율은 130 ± 46.4 %로 매우 양호하였다.

발명의 효과

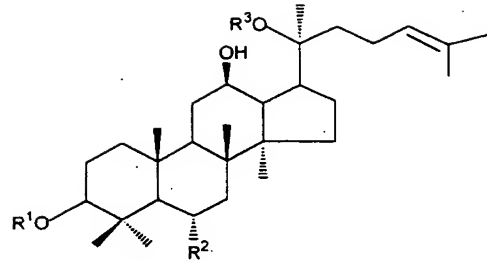
인삼 진세노사이드 Rc 및 Mc, 진세노사이드의 가수분해산물인 화합물 Y, K, PPD, PPT는 베타아밀로이드의 독성 및 생성을 막고, 공간지각능력을 향상시키며, 뇌신경세포의 시냅스 밀도를 증가시킬 뿐만 아니라 강력한 항산화 작용을 나타내므로 치매, 파킨슨병, 뇌졸중, 헌팅턴병 등의 퇴행성 뇌질환에 대해 우수한 예방 및 치료제로 사용될 수 있다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

하기 화학식 1의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 하는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료용 조성물:

화학식 1



상기 식에서,

• R¹ 은 H 또는 Glu - Glu이고,

R² 는 H 또는 OH이고,

R³ 는 H, 글루코스, Ara(p) - Glu 또는 Ara(f) - Glu이다.

청구항 2.

제1항에 있어서,

화합식 1의 화합물이 진세노사이드 Rc, 진세노사이드 Mc, 화합물 Y, 화합물 K, 프로토파낙사디올(PPD) 또는 프로토파낙사트리올(PPT)인 조성물.

청구항 3.

제1항에 있어서,

퇴행성 뇌질환이 알츠하이머성 치매, 파킨슨병, 뇌졸중 또는 헌팅턴병인 조성물.

청구항 4.

제 1 항에 있어서,

상기 조성물이 항산화 효과를 나타냄을 특징으로 하는 조성물.

청구항 5.

제 1 항에 있어서,

상기 조성물이 α - 시크리테이즈(α - secretase) 활성화 효과를 나타냄을 특징으로 하는 조성물.

청구항 6.

제 1 항에 있어서,

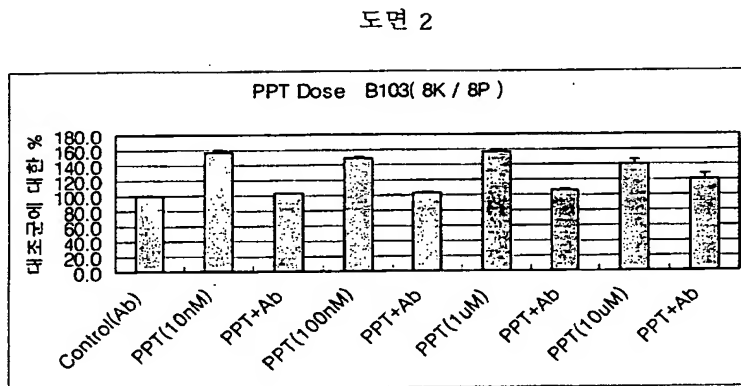
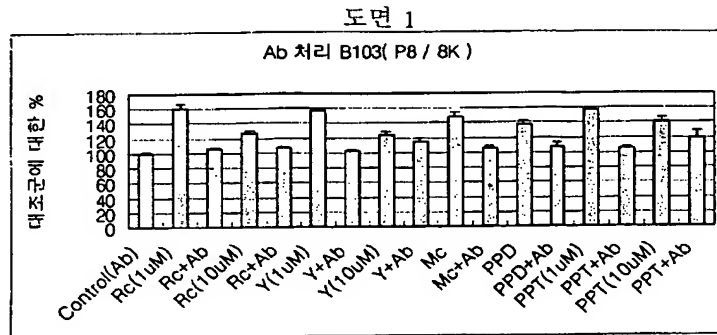
상기 조성물이 β -시크리테이즈(β -secretase) 활성억제 효과를 나타냄을 특징으로 하는 조성물.

청구항 7.

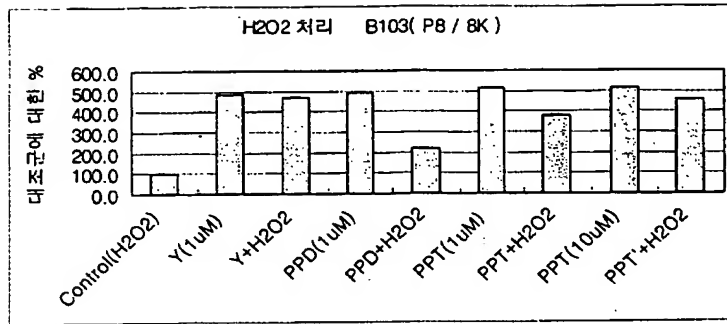
제 1 항에 있어서,

상기 조성물이 시냅스 밀도 증가 효과를 나타냄을 특징으로 하는 조성물.

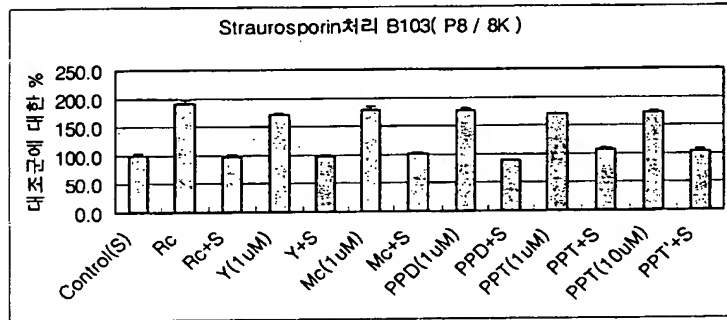
도면



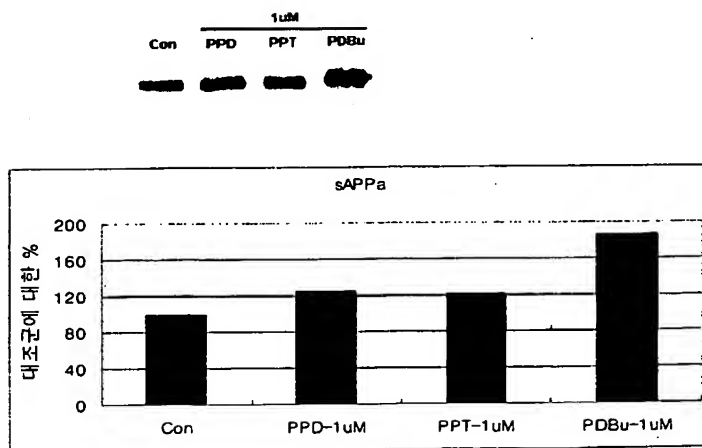
도면 3



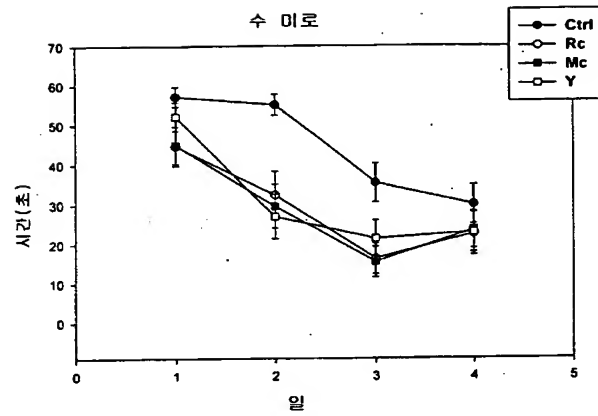
도면 4



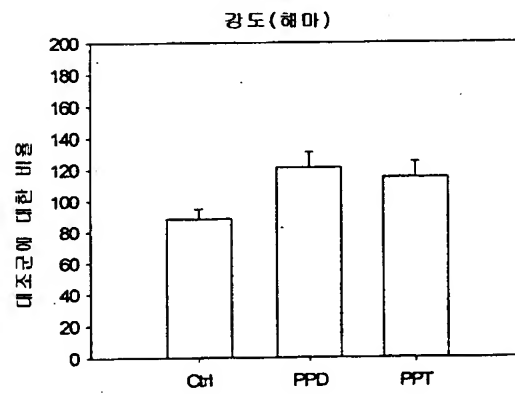
도면 5



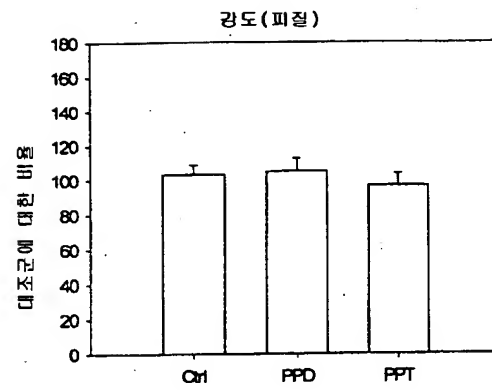
도면 6



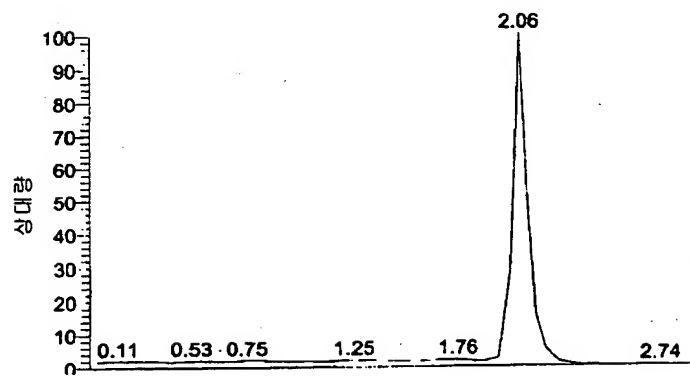
도면 7a



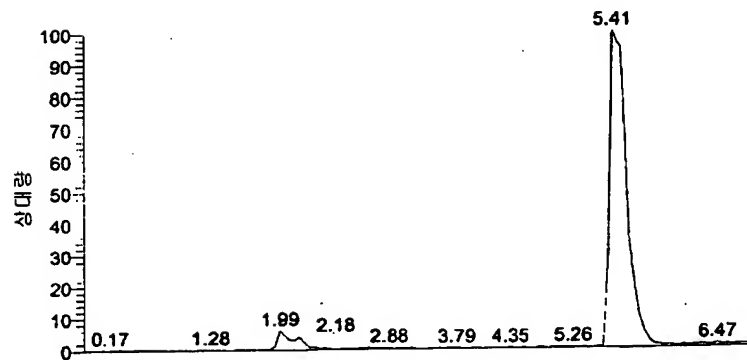
도면 7b



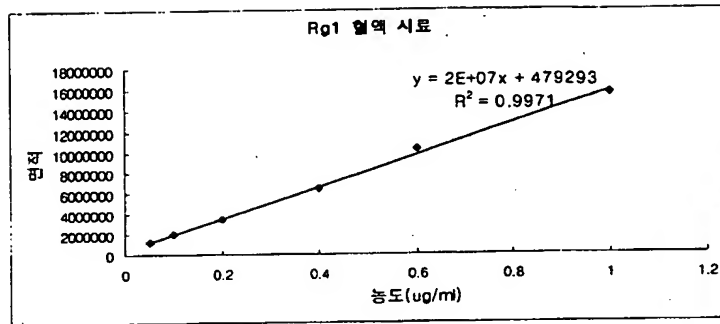
도면 8a



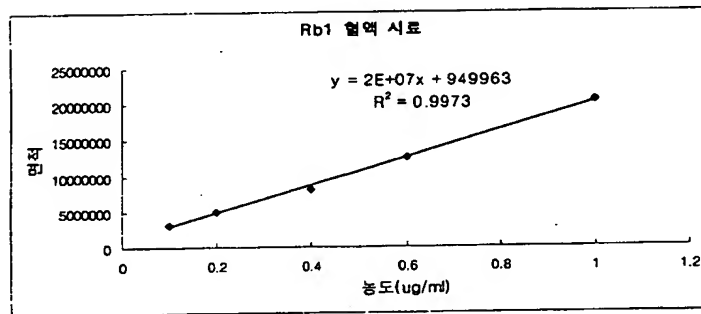
도면 8b



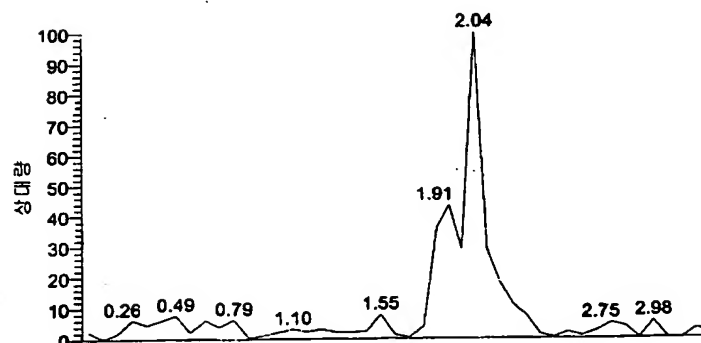
도면 9a



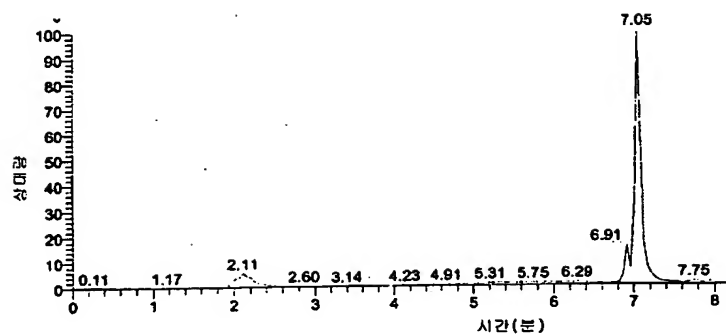
도면 9b



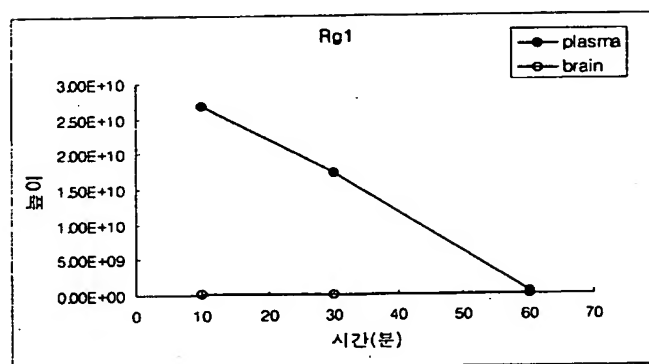
도면 10a



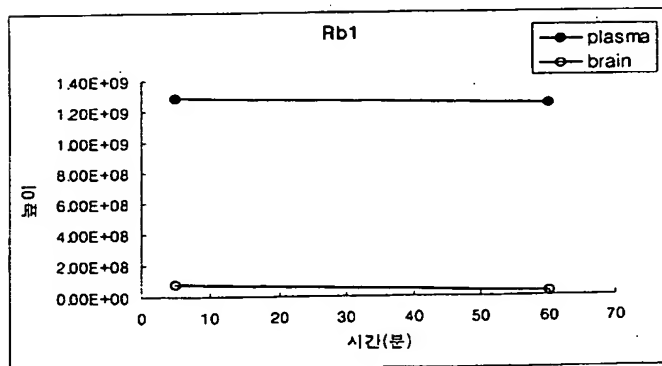
도면 10b



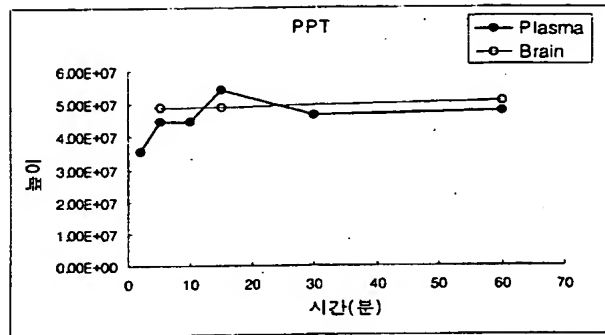
도면 11a



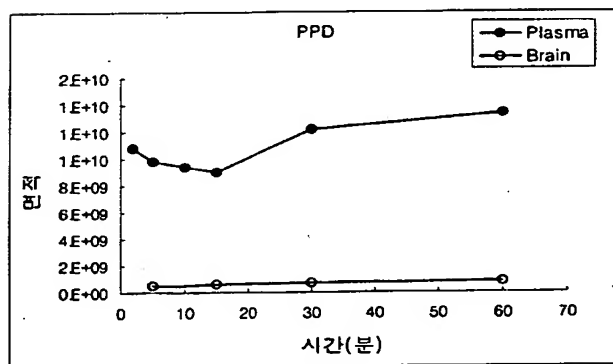
도면 11b



도면 12a



도면 12b



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.